

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
SANITÁRIA E AMBIENTAL**

Natacha Nancy Martellet Coura

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE
CALCINAÇÃO DO TiO_2 NA DEGRADAÇÃO
FOTOCATALÍTICA DA BACTÉRIA *ESCHERICHIA COLI*.**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina para Conclusão do
Curso de Graduação em Engenharia
Sanitária e Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Henrique de
Melo Lisboa.

Co-orientadora: Eng. Msc. Valéria
Vidal de Oliveira.

Florianópolis
2011

C858 COURA, Natacha Nancy Martellet.

Avaliação da influência da temperatura de calcinação do TiO_2 na degradação fotocatalítica da Bactéria *Escherichia Coli* / Natacha Nancy Martellet Coura. – 2011.

65 f. il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental)-Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Henrique de Melo Lisboa.

Co-orientadora: Eng. Msc. Valéria Vidal de Oliveira.

1. Fotocatálise. 2. Dióxido de Titânio. 3. *Escherichia coli*.

I. Título.

CDU

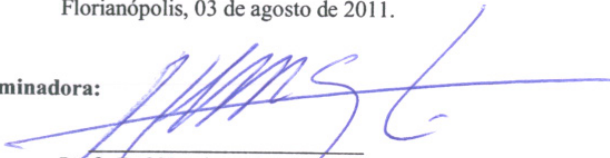
NATACHA NANCY MARTELLET COURA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE
CALCINAÇÃO DO TiO_2 NA DEGRADAÇÃO
FOTOCATALÍTICA DA BACTÉRIA *ESCHERICHIA COLI*.**

Trabalho submetido à Banca Examinadora como parte dos
requisitos para Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia
Sanitária e Ambiental–TCC II.

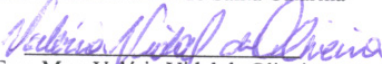
Florianópolis, 03 de agosto de 2011.

Banca Examinadora:



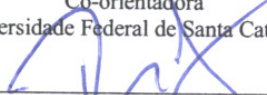
Prof., Dr.^a Henrique de Melo Lisboa
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina



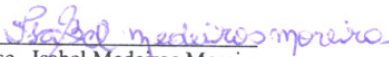
Eng. Msc. Valéria Vidal de Oliveira.
Co-orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof., Dr.^a Paulo Belli Filho
Membro da Banca

Universidade Federal de Santa Catarina



Msc.. Isabel Medeiros Moreira,
Membro da Banca

Universidade Federal de Santa Catarina

FLORIANÓPOLIS, (SC)
2011

Ao meu pai, Augusto Barbosa Coura Neto e a minha mãe, Mariza
Matilde Martellet Coura.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Mariza e Augusto, pelo incentivo, suporte emocional, carinho, apoio e por me ajudarem a realizar todos os meus sonhos.

Aos meus especiais amigos: Wanderli Leite, Pamela Germim, Ana Maymone, Alexandre Mesquita, Rafael Almeida, Marina Scheeren, André da Costa, Euro Mesquita, Icles Rodrigues, Itibere Ewerling, Rodrigo Costa, Rafael Melo, pelas festas, boas risadas e boa companhia, nos bons e maus momentos a qualquer hora e qualquer lugar.

Aos meus novos amigos, Camila Roncato, Marlon Capanema, Philippe Tétreault e Eliane Ndanga pelo companheirismo em Sherbrooke e por toda ajuda e apoio durante o meu estágio.

Ao prof. Henrique de Melo Lisboa, pela orientação, confiança, e ensinamentos valiosos.

À engenheira Valéria Vidal de Oliveira, pela coorientação, grande incentivadora desta pesquisa e apoio fundamental para realização deste trabalho.

Ao professor Alexandre Cabral por ter me recebido na Universidade de Sherbrooke e ter me proporcionado uma nova experiência e o começo de uma vida profissional.

A toda equipe LCQAr, em especial à mestranda Isabel Moreira, por todo apoio durante a fase experimental do trabalho.

À empresa HIDROCLÍNICA, em especial a funcionária Rosecler, por ter cedido a cepa de *E. coli* necessária para a realização do experimento, bem como por permitir que uma parte do procedimento fosse realizada nesse local.

Agradeço também a todas as demais pessoas que direta ou indiretamente tiveram alguma participação na realização deste trabalho.

O vigor físico é bom, o vigor intelectual é melhor ainda, mas, muito acima de ambos, está o vigor do caráter.

(Theodore Roosevelt)

RESUMO

A *Escherichia coli* é um bacilo gram-negativo que habita naturalmente a flora intestinal do homem e da maioria dos animais de sangue quente e é um agente etiológico importante associado a infecções adquiridas. O presente Trabalho de Conclusão de Curso teve como objetivo analisar, através de medições e experimentos laboratoriais, qual a temperatura de calcinação do dióxido de titânio (340°, 400°, 500°, 600° e 700°C) que melhor influencia na degradação fotocatalítica desta bactéria. O experimento foi realizado tanto na ausência de iluminação quanto na presença de luz ultravioleta. Além disso, foi analisada a influência do TiO_2 puro sem sofrer o processo de calcinação. A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em meio sólido, (processo difusão em cavidade). Foram efetuadas as leituras do diâmetro do halo de inibição, obtidas em milímetros, 24 horas após a inoculação bacteriana. O tamanho desse halo é proporcional à eficácia do agente antimicrobiano, pois nessa região não há crescimento bacteriano. Com relação à influência da temperatura de calcinação do dióxido de titânio, analisando somente com base nos experimentos realizados, conclui-se que quanto maior a temperatura de calcinação adotada neste estudo, mais eficiente o TiO_2 será na degradação bacteriana da *E. coli*. Conclui-se também que é melhor adotar o dióxido de titânio, depois de uma previa calcinação deste composto, já que este procedimento parece otimizar sua eficácia.

Palavras-chave: Fotocatálise. Dióxido de Titânio. *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Escherichia coli is a gram-negative bacillus that naturally inhabits men's intestines and most warm-blooded animals. It is also an important etiologic agent associated with acquired infections. This Completion of Course Work aimed to examine, through measurements and laboratory experiments, which of the temperature of calcinations of titanium dioxide (340°, 400°, 500°, 600° and 700° C) best influences the photocatalytic degradation of this bacterium. The experiment was conducted both in the absence and presence of ultraviolet illumination light. In addition, we analyzed the influence of pure TiO₂ without undergoing the process of calcination. Antimicrobial activity was determined by the diffusion method in solid medium (diffusion process in cavity). The readings of the diameter of inhibition zone, obtained in millimetres, were made 24 hours after bacterial inoculation. The size of this halo is proportional to the effectiveness of the antimicrobial agent, because in this region, there is no bacterial growth. Concerning the influence of calcination temperature of titanium dioxide, analyzing only on the basis of experiments, we concluded that the higher the calcination temperature used in this study, the more TiO₂ is efficient in the degradation of the bacteria *E. coli*. We also concluded that it is better to adopt the titanium dioxide, after prior calcinations of this compound, since this procedure seems to enhance its effectiveness.

Keywords: Photocatalysis. Titanium dioxide. *Escherichia coli*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espectro eletromagnético	Erro! Indicador não definido.
Figura 2 - Fotoativação de um semicondutor.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 3 - Formas alotrópicas do TiO_2 : a) anatase; b) rutilo.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 4 - Bacilos de <i>Escherichia coli</i>	Erro! Indicador não definido.
Figura 5 - Representação de algumas estruturas encontradas na <i>Escherichia coli</i>	Erro! Indicador não definido.
Figura 6 - Imagem noturna da HIDROCLINICA ...	Erro! Indicador não definido.
Figura 7 - Embalagem contendo o dióxido de titânio utilizado	Erro! Indicador não definido.
Figura 8 - Porção de 2,5 g de TiO_2	Erro! Indicador não definido.
Figura 9 - Mufla utilizada na calcinação.	Erro! Indicador não definido.
Figura 10 - Estufa do LIMA	Erro! Indicador não definido.
Figura 11 - TiO_2 dentro do dessecador ...	Erro! Indicador não definido.
Figura 12 - Frasco de vidro contendo meio de cultura utilizado.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 13 - Aquecimento do ágar em banho-maria.	Erro! Indicador não definido.
Figura 14 - Frasco com cepa de <i>Escherichia coli</i> ...	Erro! Indicador não definido.
Figura 15 - Pipetador utilizado.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 16 - Material na estufa sob Luz UV.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 17 - Material na estufa sem luz UV	Erro! Indicador não definido.
Figura 18 - Paquímetro utilizado	Erro! Indicador não definido.
Figura 19 - Halo inibitório	Erro! Indicador não definido.
Figura 20 - Autoclave do LIMA	Erro! Indicador não definido.
Figura 21 - Material utilizado dentro da autoclave .	Erro! Indicador não definido.
Figura 22 - Metodologia resumida e ilustrada	Erro! Indicador não definido.
Figura 23 - Placas sem iluminação UV	56
Figura 24 - Placas sob iluminação UV	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação dos Processos Oxidativos Avançados	34
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Tamanho do halo nas placas contendo TiO_2 **Erro! Indicador não definido.**

Gráfico 2 - Tamanho do halo nas placas sob iluminação UV**Erro! Indicador não definido.**

Gráfico 3 - Tamanho do halo nas placas com ausência de iluminação
.....**Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medição do halo nas placas com TiO_2 sob luz UV	54
Tabela 2 - Medição do halo nas placas com TiO_2 sem luz UV	54
Tabela 3 - Comparação dos valores médios do halo nas placas contendo TiO_2	55
Tabela 4 - Medição do halo nas placas com TiO_2 sem calcinação	55
Tabela 5 - Medição do halo nas placas contendo amoxicilina	56
Tabela 6 - Maiores valores de halo inibitório (em mm) para a amoxicilina e para o TiO_2	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CO - Monóxido de Carbono

CO₂ - Dióxido de Carbono

COV - Composto Orgânico Volátil

E. Coli - Escherichia coli

eV - elétron-Volt

LCQAr - Laboratório de Controle da Qualidade do Ar
nm-Nanômetro

POA - Processo Oxidativo Avançado

TiO₂ - Dióxido de Titânio

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

UV - Ultravioleta

µl - Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 OBJETIVOS	29
2.1 OBJETIVO GERAL.....	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
3.1 POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA.....	31
3.2 QUALIDADE DO AR INTERNO.....	32
3.3 NANOTECNOLOGIA.....	33
3.4 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS	33
3.5 FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA.....	35
3.6 <i>ESCHERICHIA COLI</i>	38
3.7 AMOXICILINA	40
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
4.1 LOCAL DE ESTUDO	42
4.2 MATERIAIS	43
4.3 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	43
4.3.1 Calcinação do TiO_2	44
4.3.2 Preparação do meio de cultura.....	46
4.3.3 Preparação dos inóculos.....	48
4.3.4 Método de difusão em cavidade: avaliação da atividade antibacteriana.....	49
4.3.5 Medição do halo de inibição	51
4.3.6 Resumo da metodologia adotada.....	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES FINAIS	62
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a preocupação com questões ambientais tem ganhado bastante importância e aparecido com mais frequência na mídia brasileira e internacional. O número de organizações não governamentais que surgiram, ligadas ao meio ambiente, é maior em todo o mundo. Aspectos ambientais até então ignorados, passaram a fazer parte de campanhas eleitorais e plataformas de governo. A poluição atmosférica está inserida entre estas questões ambientais, e é associada comumente, tanto ao aquecimento global e às alterações climáticas, quanto à diminuição da qualidade do ar e ao incremento no número de casos de problemas alérgicos e respiratórios.

Dentro de edifícios, em ambientes confinados, o ar inalado pelas pessoas pode estar contaminado com uma série de microorganismos, tais como ácaros, fungos, bactérias, vírus, além de poluentes e materiais prejudiciais a saúde.

Um dos microorganismos frequentemente utilizado em estudo de fotocatalise heterogênea é a *Escherichia coli*. Esta bactéria, por sua vez, está associada à intoxicação alimentar, infecção do trato urinário, doença respiratória, pneumonia e outras doenças. Um dos mecanismos capazes de inativar essas bactérias é a fotocatalise heterogênea, isto é, uma reação química que ocorre na presença de catalisador e é ativada pela luz.

O presente Trabalho de Conclusão de Curso teve como objetivo analisar, através de medições e experimentos laboratoriais, qual a temperatura de calcinação do dióxido de titânio (340°, 400°, 500°, 600° e 700°C) que melhor influenciou na degradação fotocatalítica da bactéria *Escherichia coli* (presente na atmosfera de alguns ambientes confinados), avaliado através do método de difusão em cavidade. O experimento se realizou tanto na ausência de iluminação quanto na presença de luz ultravioleta. Além disso, foi analisada a influência do TiO₂ puro sem sofrer o processo de calcinação.

A avaliação do potencial fotocatalítico que foi feita neste trabalho utilizou um pó branco, semicondutor, fácil de ser obtido, com resultados comprovados e de excelente atividade fotocatalítica: o dióxido de titânio (TiO₂). Entretanto, outros compostos poderiam ser utilizados em substituição ao TiO₂ tais como o CdS, ZnO, WO₃, ZnS, BiO₃ e Fe₂O₃.

Ao meio de cultura devidamente inoculado com bactérias de *Escherichia coli*, foi depositado em cavidades, feitas no Agar Mueller Hinton, o dióxido de titânio (método de difusão em cavidade). O crescimento bacteriano cessou na presença desse composto sob

iluminação UV, formando um halo de inibição, que foi medido em milímetros. Quanto maior o halo de inibição formado maior é a atividade fotocatalítica e mais eficiente é o composto na inativação das bactérias.

A metodologia aqui apresentada está intimamente relacionada com os estudos e pesquisas desenvolvidos pelo Laboratório de Controle de Qualidade do Ar (LCQAr) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e contou com o apoio fundamental da empresa Hidroclínica, no bairro Santa Mônica, local onde foi realizada a maioria dos procedimentos.

Os resultados obtidos com essa pesquisa permitirão o desenvolvimento de metodologias mais eficientes para inativação de bactérias e serão comparados com análises feitas utilizando um antibiótico conhecido como a amoxicilina.

Os beneficiários deste trabalho serão grupos de pesquisa e instituições que trabalham com fotocatalise, microbiologia, além de pesquisadores e profissionais na área da saúde.

Pesquisas com tecnologias que propiciam o tratamento e remoção de compostos indesejáveis beneficiam a sociedade e o meio ambiente como um todo. A fotocatalise, além de ser usada na inativação de bactérias, auxilia na degradação de compostos orgânicos e inorgânicos presentes tanto no ar quanto em efluentes líquidos. Enfim, os benefícios da fotocatalise são inúmeros e toda pesquisa relacionada deve ser incentivada e apoiada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da temperatura de calcinação do pó de TiO_2 na degradação fotocatalítica da bactéria *Escherichia coli*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar qual temperatura de calcinação do TiO_2 (340, 400, 500, 600 e 700°C) aumenta sua eficiência em degradar fotocataliticamente a bactéria *Escherichia coli*, sob iluminação UV;
- Avaliar qual temperatura de calcinação do TiO_2 (340, 400, 500, 600 e 700°C) aumenta sua eficiência em degradar a bactéria *Escherichia coli*, na ausência de iluminação;
- Avaliar o potencial do semicondutor TiO_2 em degradar fotocataliticamente, sob iluminação UV, a bactéria *Escherichia coli*, sem passar pelo processo de calcinação;
- Avaliar o potencial do semicondutor TiO_2 em degradar a bactéria *Escherichia coli*, sem passar pelo processo de calcinação, na ausência de luz;
- Avaliar o potencial de desinfecção do antibiótico amoxicilina, com e sem luz UV, e comparar com os resultados das amostras de TiO_2 .

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA

O conceito de poluição atmosférica, de acordo com Bretschneider e Kurfürst (1987, *apud* Pires, 2005) é a introdução de materiais, de forma direta ou indireta na atmosfera, podendo vir a acarretar danos aos ecossistemas, recursos naturais e à saúde humana.

A poluição atmosférica pode ser, tanto de origem natural, quanto de origem antrópica. Há milhares de anos gases e materiais particulados são expelidos na atmosfera, oriundos de atividades vulcânicas e outras fontes naturais. Além disso, os incêndios florestais não causados pelo homem, também são exemplos de causas naturais (OLIVEIRA, 1997).

O homem através de suas inúmeras atividades contribui significativamente no incremento da poluição atmosférica, na medida em que são liberados diariamente diversos tipos de efluentes e emissões gasosas oriundos dessas atividades antrópicas (OLIVEIRA, 1997).

Os efeitos deletérios, diretos ou indiretos, da poluição atmosférica, recaem sobre a saúde e bem-estar do homem, flora, fauna, corpos hídricos, solos, construções e materiais como os metais (PIRES, 2005).

A poluição atmosférica acelera a corrosão dos metais aumentando os custos para sua proteção, danifica as construções e obras de arte, influencia negativamente a produção agrícola, através da chuva ácida, por exemplo. Com relação à atmosfera pode causar redução na visibilidade em nível local, bem como deposição ácida, aumento no efeito estufa e redução na camada de ozônio (PIRES, 2005). Sobre a saúde humana este tipo de poluição pode causar efeitos tais como irritação nos olhos, tosse, intoxicações gradativas em longo prazo, além de problemas respiratórios e circulatórios (CAVALCANTI, 2003).

O controle da poluição atmosférica, portanto, visa minimizar os impactos ao meio ambiente, preservar a saúde do homem e reduzir danos econômicos. Devido à crescente preocupação e importância dada aos aspectos ambientais, foram criadas normas, regulamentações e padrões de emissão de efluentes que contribuem para que haja uma redução na geração e emissão de poluentes e, consequentemente, contribuem no controle da poluição do ar.

3.2 QUALIDADE DO AR INTERNO

Qualidade do ar interno é entendido como o conjunto de propriedades químicas (como a ausência de poluentes é impraticável em residências e no comércio, entende-se como a manutenção das concentrações dos poluentes abaixo dos níveis considerados como seguros), físicas (temperatura e umidade adequadas) e biológicas (também, manutenção das concentrações ou quantidades de microorganismos abaixo dos níveis considerados como seguros) que assegurem conforto e segurança à saúde dos usuários (CARMO, 2009).

Antes da década de 70 pouco se falava sobre qualidade do ar em ambientes internos. Hoje em dia este assunto tem ganhado mais importância, inclusive em termos de saúde ocupacional, pelo fato de as pessoas passarem grande parte do tempo em ambientes confinados e climatizados (KONDO *et al.*, 2003).

Um dos principais fatores responsáveis por ambientes interiores com baixa qualidade de ar é a ausência ou insuficiência de ventilação, para que ocorra uma efetiva circulação e renovação de ar. Outros fatores incluem a presença de material particulado, acúmulo de dióxido de carbono, compostos químicos como os COV (compostos orgânicos voláteis) e a presença de microorganismos patogênicos (KONDO *et al.*, 2003).

As principais fontes de compostos orgânicos voláteis em ambientes confinados são as emissões destes pelos materiais de construção, acabamento e móveis. Além disso, os microorganismos podem liberar estes compostos em decorrência de seus processos metabólicos (PASCHOALINO, 2006).

Em certos recintos, pode haver acúmulo de dióxido de carbono devido a uma quantidade insuficiente de ar, bem como ausência de renovação deste no local (CARMO, 2009).

Em um ambiente interno, cuja qualidade do ar encontra-se deteriorada, as pessoas podem vir a apresentar problemas de saúde e diversos sintomas, como fadiga, sonolência, reações alérgicas, tontura e dor de cabeça. Ao conjunto dos sintomas intimamente relacionados com a qualidade do ar denomina-se “Síndrome do Edifício Doente” (KONDO *et al.*, 2003).

Um estudo realizado em Salvador, BA, apontou que 11,22% das amostras de ar analisadas, coletadas em diferentes edifícios, apresentaram contagens fúngicas superiores ao estabelecido pela Resolução nº 9 (BRASIL, 2003) do Ministério da Saúde que é 750 ufc (unidades formadoras de colônias) /m³ de ar. Isto evidencia a necessidade de limpeza, desinfecção e controle periódicos das atmosferas confinadas a fim de minimizar seus perigos biológicos (PASCHOALINO, 2006).

Para mitigar o problema da contaminação biológica em recintos fechados, encontram-se disponíveis, entre outros métodos, os filtros biológicos. Estes promovem a transferência dos microorganismos de um meio para outro, sem destruí-los (KONDO *et al.*, 2003). Outras possíveis soluções, como o uso da fotocatalise com TiO₂ podem ser estudadas (PASCHOALINO, 2006).

3.3 NANOTECNOLOGIA

Segundo Porto (2008) a Nanotecnologia consiste na construção de estruturas e materiais com dimensões extremamente pequenas, ou seja, em escala nanométrica, com tamanhos da ordem de um a cem nanômetros.

Partículas deste tamanho ou "nanopartículas" apresentam uma grande área superficial e, frequentemente, exibem propriedades mecânicas, ópticas, magnéticas ou químicas distintas das partículas e superfícies macroscópicas. O aproveitamento dessas propriedades em aplicações tecnológicas forma a base da nanotecnologia de materiais (QUINA, 2004). Portanto, através da manipulação de átomos e moléculas, a nanotecnologia possibilita a fabricação de novos materiais e produtos diferenciados (PORTO, 2008).

Diversos artigos científicos abordam os inúmeros benefícios da nanotecnologia, que vão desde a melhoria da saúde e qualidade de vida à promessa de auxiliar na redução da pobreza e desigualdade. Essa tecnologia pode ser aplicada em diversas áreas, como na computação, no setor agrícola, no desenvolvimento de novos materiais, na modificação das propriedades de produtos conhecidos, em avanços na área médica e farmacológica (INVERNIZZI, 2008).

3.4 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Os processos oxidativos avançados (POA) são aqueles processos oxidativos que utilizam o radical hidroxila (OH.) para converter

poluentes orgânicos e inorgânicos em substâncias químicas inócuas, como o dióxido de carbono e água (NOGUEIRA e JARDIM, 1998).

O radical hidroxila é altamente oxidante e reativo. Portanto, pode reagir com uma variedade de compostos, promovendo sua mineralização em compostos inócuos (NOGUEIRA; JARDIM, 1998).

Segundo Nogueira e Jardim (1998) esses processos oxidativos avançados são mais sustentáveis em longo prazo, pois ao contrário de muitas tecnologias ambientais que não eliminam os poluentes, apenas promovem uma transferência de fase, os POA destroem o poluentes, resolvendo o problema (ZIOLLI; JARDIM, 1998).

Os processos oxidativos avançados podem ser usados nos diversos processos de descontaminação ambiental, tais como, no tratamento de efluentes, na desinfecção da água e do ar, na inativação/destruição de microorganismos patogênicos presentes nesses meios (PASCHOALINO, 2006).

De acordo com Nogueira e Jardim (1998) os POA podem ser classificados em dois tipos: sistemas homogêneos e heterogêneos (Quadro 1). Nos processos oxidativos avançados são formados radicais hidroxilas independentemente da presença ou não de irradiação ultravioleta. Com relação aos sistemas heterogêneos, estes autores citam os processos que fazem uso de peróxido de hidrogênio, a decomposição catalítica de peróxido de hidrogênio em meio ácido (conhecida por reação de Fenton ou foto-Fenton), bem como os processos que utilizam ozônio, e semicondutores como o dióxido de titânio (fotocatálise heterogênea).

Quadro 1 - Classificação dos Processos Oxidativos Avançados.

Sistemas	Sem irradiação	Com irradiação
Homogêneos	O_3/H_2O_2	O_3/UV
	O_3/OH^\cdot	H_2O_2/UV
	H_2O_2/Fe^{2+}	$O_3/H_2O_2/UV$
	-	UV/vácuo
	-	$H_2O_2/Fe^{2+}/UV$
Heterogêneos	Elétron-fenton	Semicondutor/UV
	-	Semicondutor/ H_2O_2/UV

Fonte: HUANG *et. al.* (1993).

3.5 FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA

A fotocatalise heterogênea surgiu na década de 70, quando pesquisadores que trabalhavam com células fotoeletroquímicas buscavam obter combustível a partir de materiais baratos. Em 1972, no Japão, o pesquisador Honda e seu aluno Fujishima descreveram a oxidação da água (com a geração de hidrogênio e oxigênio) a partir da irradiação de suspensão de TiO_2 (FUJISHIMA e HONDA, 1972, *apud* MILLS e HUNTE, 1997).

Em 1983, a partir de dois trabalhos de Pruden e Ollis, a fotocatalise heterogênea foi reconhecida como uma tecnologia que poderia ser aplicada na descontaminação ambiental. Naquele ano, foi demonstrada a completa mineralização do clorofórmio e do tricloroetileno durante iluminação de suspensão de TiO_2 . A partir de então, surgiram diversas pesquisas sobre este tema, que recebe até hoje atenção por parte de cientistas no mundo todo em virtude das diversas possibilidades de aplicação desta tecnologia, tanto no meio ambiente, na degradação de compostos, quanto em outras áreas, como a construção civil (NOGUEIRA e JARDIM, 1998).

A fotocatalise heterogênea, portanto, é uma tecnologia relativamente recente, limpa e promissora, que utiliza a incidência de luz ultravioleta (natural ou não) na superfície de materiais semicondutores (FRANCISCO, 2009).

A luz ultravioleta (UV) citada acima é uma radiação eletromagnética com comprimento de onda entre 100 nm e 400 nm. Apresenta, portanto, menor comprimento de onda e maior energia que a luz visível e maior comprimento de onda e menor energia que os raios-X, pois quanto menor o comprimento de onda maior a energia. A luz ultravioleta pode ser UV-A (320 nm a 400 nm), UV-B (280 nm a 320 nm) e UV-C (100 nm a 280 nm) (TUBOY, 2005 *apud* PORTO, 2008).

A Figura 1 apresenta de maneira simples e didática o espectro eletromagnético, bem como ilustra a explicação contida no parágrafo anterior.

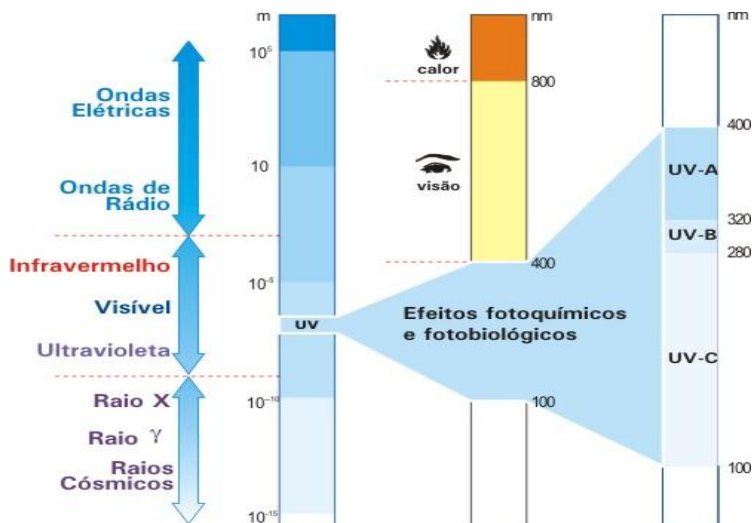


Figura 1 - Espectro eletromagnético.

Fonte: <http://www.akarilampadas.com.br/aplicacoes/>. Acesso em: 20 out. 2010.

Os semicondutores são materiais que apresentam uma camada de valência livre e uma região condutora, separadas por um “bandgap”- região entre as bandas de valência e condução. Quando uma radiação UV, com energia maior ou igual à energia da bandgap, incide sobre os semicondutores, ocorre à transferência de elétrons da camada de valência para a camada condutora (MARANHÃO; LOH; JOHN, 2008). Em função disso, surge uma lacuna (h^+) na camada de valência, com potenciais positivos na faixa de +2,0 a +3,5 eV. Esses elétrons, ao serem transferidos, possuem, portanto, energia suficiente para gerar radicais hidroxila (altamente oxidantes e reativos), a partir de moléculas de água presentes na superfície do sólido semiconductor (NOGUEIRA; JARDIM, 1998). Isto é importante para degradar os compostos que estiverem aderidos na superfície do semiconductor e, no caso de serem compostos orgânicos, de oxidá-los, transformando-os em dióxido de carbono e água (ZIOLLI; JARDIM, 1998).

A Figura 2 ilustra o processo de fotoativação de um catalisador. Mostra a região chamada de “bandgap”, e a excitação eletrônica.

FOTOATIVACÃO DO CATALISADOR

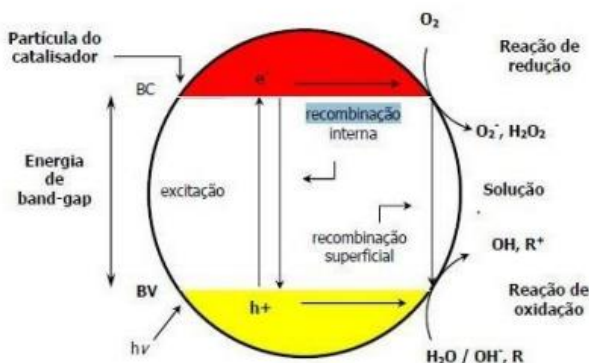


Figura 2 - Fotoativação de um semicondutor

Fonte: Teixeira e Jardim, (2004).

Dentre os diversos semicondutores existentes, o mais estudado e utilizado em atividades fotocatalíticas é o dióxido de titânio (TiO_2), em virtude de características como: estabilidade química, baixo custo de processamento, fotoestabilidade e facilidade de obtenção (MARANHÃO; LOH; JOHN, 2008). O catalisador TiO_2 é um pó branco que se encontra em três formas cristalinas fundamentais: brookite, anatase e rutilo. As duas últimas (Figura 3) são as formas mais comuns e as mais estudadas. A forma anatase é bem mais fotoativa, sendo então preferencialmente usada na degradação fotocatalítica (ZIOLLI e JARDIM, 1998).

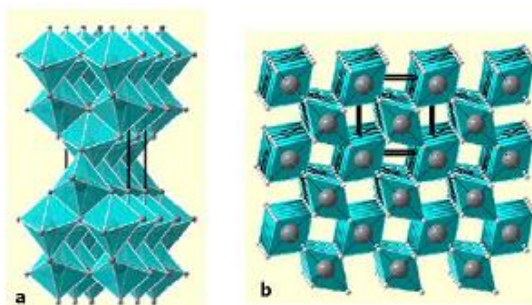


Figura 3 - Formas alotrópicas do TiO_2 : a) anatase; b) rutilo

Fonte: Montagner *et al.* (2005).

A forma anatase apresenta vantagens sobre a rutilo, entre elas estão a região da banda de condução mais favorável a condução de reações conjugadas que envolvem elétrons, e a possibilidade de formação, na sua superfície, de grupos de peróxido bastante estáveis durante a reação de foto-oxidação (ZHAO e YANG, 2003).

3.6 *ESCHERICHIA COLI*

A *Escherichia coli* é um bacilo gram-negativo (Figura 4) que habita naturalmente a flora intestinal do homem e da maioria dos animais de sangue quente. Em função disso, ela é encontrada normalmente nas fezes desses animais e sua presença na água indica poluição fecal. Esta bactéria bloqueia o crescimento de espécies bacterianas nocivas e sintetiza considerável quantidade de vitaminas K e do complexo B (SES/SP, 2008). Membros da família Enterobacteriaceae, essas bactérias são facultativamente anaeróbicas, apresentam-se na forma bastonetes (1.0 – 1.5 µm de largura e 2.0 – 6.0 µm de comprimento) e podem ter ou não mobilidade. Geralmente a fimbria ou pili estão presentes. As fímbrias têm a finalidade de ligar a *E. coli* ao intestino, sendo esta estrutura relacionada com a virulência, ou seja, com a gravidade dos efeitos (LABACVET, 2009).

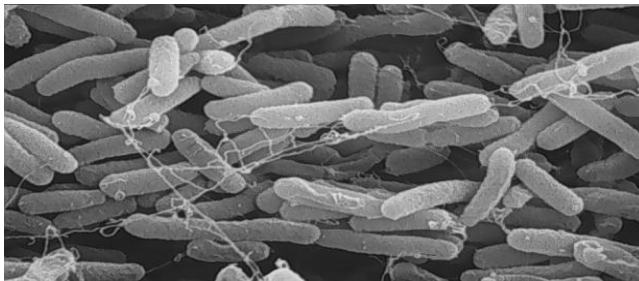


Figura 4 - Bacilos de *Escherichia coli*.

Fonte: http://homepage.usask.ca/~vim458/virology/e_coli.jpg. Acesso em: 20 out. 2010.

Na Figura 5 é possível visualizar algumas estruturas que compõem a célula bacteriana da *E. coli*, entre elas, os flagelos responsáveis pela mobilidade.

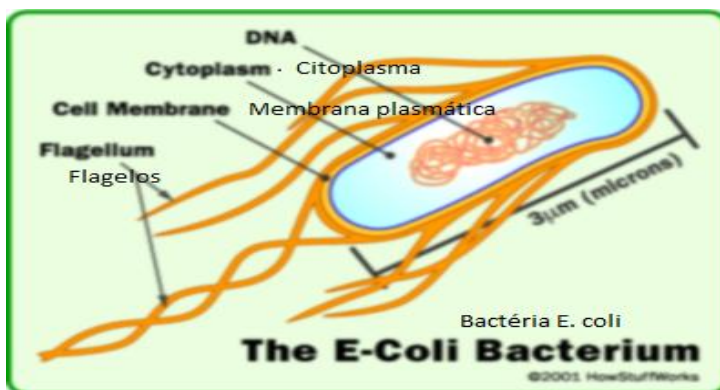


Figura 5 - Representação de algumas estruturas encontradas na *Escherichia coli*. Fonte: <<http://www.foodpoisonjournal.com/2009/09/articles/>>. Acesso em: 20 out. 2010.

A *Escherichia coli* é a célula procarionte mais bem estudada devido a sua rápida multiplicação, sua simplicidade estrutural e fácil manipulação. Sua parede celular, cuja função é proteger a bactéria de ações mecânicas, possui 20 nm de espessura e é constituída por proteínas e glicosaminoglicanas. Esta bactéria possui membrana plasmática semelhante às de células eucariontes um citoplasma com ribossomos ligados a moléculas de RNA mensageiro (RNAm). Com apenas um único cromossomo enrolado em uma estrutura denominada nucleotídeo, a bactéria *E. coli* tem um genótipo com 4×10 pares de bases e utilizada inclusive em experimentos de clonagem de genes (CHAVES, 2009).

Presentes no solo, água, ar, esgoto, a maioria das variedades de *Escherichia coli* não são patogênicas. No entanto, algumas podem provocar doenças, como: diarreia, infecção urinária, doença respiratória, pneumonia. As infecções por *Escherichia coli* iniciam quando a pessoa ingere as bactérias, ou seja, quando entram pequenas quantidades (geralmente invisíveis) de fezes humanas ou animais (bovinos, aves, coelhos, suínos) na boca. O consumo de comida contaminada, leite não pasteurizado, água não tratada, também resultam em doenças relacionados com *Escherichia coli* (MACEDO *et al.*, 2007).

3.7 AMOXICILINA

A amoxicilina é um composto bactericida semi-sintético extremamente eficaz contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Este antibiótico é, contudo, suscetível à degradação pelas enzimas beta-lactamases, e portanto, seu espectro de atividade não inclui microorganismos que produzem estas enzimas (DIAS, 2010).

A amoxicilina é frequentemente indicada no tratamento de processos infecciosos, tais como: infecções das vias aéreas superiores (amidalite, faringite, sinusite, otite média), infecções das vias aéreas inferiores (traqueobronquite aguda e crônica, pneumonias, abscesso pulmonar), infecção urinária (pielonefrite, cistite, uretrite, enteroinfecções) (VITUSSI, 2006).

Assim como outras penicilinas a maioria das reações adversas da amoxicilina estão essencialmente limitadas às reações de hipersensibilidade. Estas ocorrem com maior probabilidade em indivíduos que demonstraram reações prévias de hipersensibilidade as penicilinas, ou naquelas com história alérgica, asma, febre do feno ou urticária (DIAS, 2010).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE ESTUDO

A pesquisa experimental foi realizada no LIMA (Laboratório Integrado de Meio Ambiente) da UFSC e na empresa HIDROCLÍNICA LTDA, localizada no bairro Santa Mônica (Figura 6), durante o período de novembro de 2010 a janeiro de 2011.

A metodologia deste trabalho consistiu na realização de experimentos laboratoriais (método de difusão em cavidade) e teve como objetivo servir como fonte de dados sobre a influência da temperatura de calcinação do fotocalizador TiO_2 e da luz UV na degradação fotocatalítica da bactéria *Escherichia coli*.

Essa metodologia teve como base principal a dissertação de mestrado de Carmo (2009) cujo título é “Atividade Fotocatalítica de Nanotubos de Titanatos frente a bactérias”.



Figura 6 - Imagem noturna da HIDROCLÍNICA.

Fonte: <<http://www.hidroclinica.com.br>>. Acesso em: 04 abr. 2011.

4.2 MATERIAIS

Para os procedimentos adotados neste trabalho foram necessários os seguintes materiais: mufla, três estufas, sendo duas delas bacteriológicas, dessecador, autoclave, aquecedor, frasco com Agar Mueller Hilton, termômetro, placas de Petri, álcool 70, pipetas de 10 a 100 μL , alça de Drigalski, cânulas de vidro, béquer, paquímetro, lamparina, cadinhos de cerâmica, cepas ativas de *Escherichia coli* (fornecidas pela HIDROCLÍNICA), lâmpada UV e balança digital. Foram também utilizados luvas de procedimento, jaleco, touca e máscara de proteção para evitar qualquer tipo de contaminação biológica durante a preparação do meio de cultura e análise dos resultados.

A seguir, a descrição mais detalhada de alguns dos materiais citados:

- Mufla: QUIMIS;
- Balança digital: SHIMADZU, AY 220;
- Estufa: QUIMIS;
- Estufa microbiológica: modelo CE 0701;
- Pipetador: modelo Gopet monocal com variação de 10 a 100 μL ;
- TiO_2 : tipo anatase, marca Milenium, pureza 99,99%, tamanho da partícula 5-10 nm;
- Termômetro Químico: Diprolab, escala interna -10 + 110°C, capilar, prismático, transparente, mercúrio, diâmetro 7-8 mm;
- Placa de Petri: Placa PS 60 x 15 mm, lisa Descartável Estéril;
- Autoclave Vertical: Cirúrgica Climaza (indústria de Araraquara-SP);
- Lâmpada UV: lâmpada do tipo UVA (comprimento próximo do visível, cerca de 380nm).

4.3 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

A metodologia a ser aplicada foi composta de cinco etapas:

- Etapa 1: Calcinação em diferentes temperaturas do TiO_2 ;
- Etapa 2: Preparação do Meio de Cultura;
- Etapa 3: Preparação dos inóculos;
- Etapa 4: Método de difusão em cavidade;

- Etapa 5: Medição do halo de inibição.

4.3.1 Calcinação do TiO_2

O pó de dióxido de titânio, na forma anatase, foi separado em cinco porções de 2,5 g (figuras 7 e 8); uma porção para cada temperatura de calcinação analisada neste trabalho.

O uso do titânio na forma anatase deve-se ao fato de o dióxido de titânio nessa forma ser bem mais fotoativo, conforme explicado anteriormente no item 3.5.

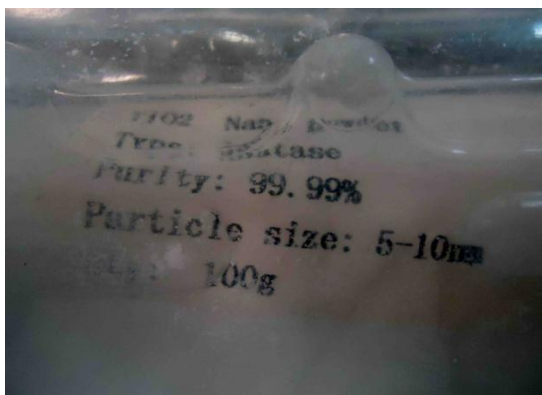


Figura 7 - Embalagem contendo o dióxido de titânio utilizado.



Figura 8 - Porção de 2,5 g de TiO_2 .

Cada porção foi colocada na mufla para calcinar o TiO_2 . As temperaturas de calcinação analisadas foram 340, 400, 500, 600 e 700°C (variação de $\pm 2^\circ\text{C}$). As amostras foram aquecidas juntamente com a mufla e após a estabilização das devidas temperaturas, permaneceram neste equipamento por uma hora (Figura 9). Cada amostra, após ser retirada da mufla, foi encaminhada à estufa à 105°C, e depois ao dessecador com o objetivo de reduzir a temperatura (figuras 10 e 11). Esta parte sólida (pó de TiO_2) foi devidamente armazenada para posterior deposição nas cavidades formadas no meio de cultura contido nas placas de Petri.



Figura 9 - Mufla utilizada na calcinação.



Figura 10 - Estufa do LIMA.



Figura 11 - TiO_2 dentro do dessecador.

4.3.2 Preparação do Meio de Cultura

O frasco contendo Agar Mueller Hinton foi aquecido em banho Maria fervente sem retirar o lacre de alumínio da embalagem (figuras 12 e 13). No banho Maria foi utilizada água deionizada, sendo que o frasco contendo Agar não precisou ficar totalmente imerso na água. Homogeneizou-se o conteúdo constantemente pela inversão do frasco e foi verificado se o conteúdo estava totalmente dissolvido observando-o contra luz.



Figura 12 - Frasco de vidro contendo meio de cultura utilizado.



Figura 13 - Aquecimento do ágar em banho-maria.

Após a completa dissolução do ágar, resfriou-se o frasco de vidro, próximo a 65°C e distribuiu-se o conteúdo assepticamente nas placas (descartáveis, estéreis e com diâmetro de 60 mm), mexendo-as, através de movimentos circulares, para que o conteúdo se distribísse de forma homogênea sobre toda placa.

Deixou-se solidificar o meio de cultura dentro do refrigerador com as placas em posição invertida, para evitar que a condensação de água que se forma na tampa caísse sobre o meio de cultura.

4.3.3 Preparação dos inóculos

Foi utilizada a cepa de *Escherichia coli*, que é responsável por várias formas de infecções em seres humanos.

Descongelou-se o recipiente, fornecido pela empresa HIDROCLÍNICA, contendo cepas de *Escherichia coli* (Figura 14) em água à temperatura ambiente. Na superfície da capela, as placas contendo o meio de cultura, foram dispostas com a luz UVC desligada, tomando o cuidado de abrir as placas somente no momento de deposição das cepas bacterianas.



Figura 14 - Frasco com cepa de *Escherichia coli*.

Inoculou-se 10 μ L de *Escherichia coli* em cada placa, espalhando as bactérias com a alça de Drigalski, que foi flambada a cada nova inoculação.

Utilizou-se para tal finalidade pipetador de 10 a 100 μ L (Figura 15) cujas pontas eram de material plástico e descartável.



Figura 15 - Pipetador utilizado.

Transcorrido o tempo necessário de incubação (24 horas), as colônias formadas foram quantificadas. Esta incubação ocorreu na estufa bacteriológica, sem a presença de luz UV, a 36°C.

4.3.4 Método de difusão em cavidade: avaliação da atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de difusão em meio sólido, através do uso de cavidades no ágar presente nas placas de Petri. Foram feitas cavidades no meio de cultura, previamente inoculado com cepas de *Escherichia coli*, com auxílio de cânulas (bastões) de vidro estéreis, onde foi depositado TiO_2 nas cinco temperaturas de calcinação analisadas.

Após esse procedimento as placas de Petri foram armazenadas a 35 °C, por 24 horas, em estufa bacteriológica (figuras 16 e 17). Uma parte delas foi submetida a luz UVA, a outra parte foi armazenada sob as mesmas condições exceto a presença de luz.

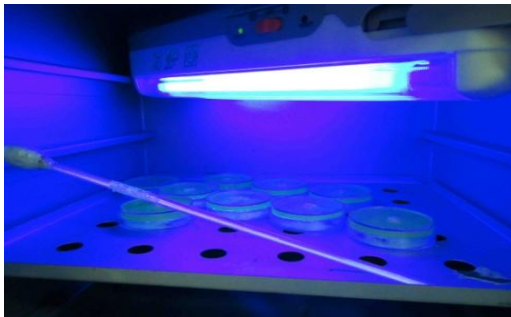


Figura 16 - Material na estufa sob Luz UV.

Todo o experimento foi realizado em duplicata e comparado com análises semelhantes feitas com amoxicilina em pó (dose de 500 mg). Utilizou-se amoxicilina como branco por ser um agente antimicrobiano reconhecidamente eficaz, barato e de fácil acesso.



Figura 17 - Material na estufa sem luz UV.

As placas foram colocadas na estufa em posição invertida, e no dia seguinte foi feita a contagem bacteriana e leitura do halo.

Após as bactérias crescerem na estufa foi feita a contagem bacteriana na placa sem a deposição de TiO_2 . Esta quantificação dos microorganismos foi realizada através da contagem dos viáveis em superfície, ou contagem em placa. O método é baseado no princípio de que toda célula viável pode se multiplicar várias vezes, em um meio sólido, e originar colônias visíveis a olho nu, utilizadas na contagem.

Como resultado, foi obtido o número de 400 unidades formadoras de colônias (UFC) em uma placa. Então se procedeu a uma simples regra de três: se em 10 microlitros há em média 400 colônias (UFC -

Unidades formadoras de colônias) em 1000 microlitros haverá $4,0 \times 10^4$ UFC, ou seja, $4,0 \times 10^4$ UFC/ml, pois 1000 μ l correspondem a 1 ml.

4.3.5 Medição do halo de inibição

As leituras do diâmetro do halo de inibição, obtidas em milímetros, foram realizadas 24 horas após a inoculação bacteriana com o auxílio de um paquímetro (Figura 18).



Figura 18 - Paquímetro utilizado.

O halo de inibição consiste em uma região transparente, formada ao redor da cavidade onde foi depositado o agente antimicrobiano. Nessa região não há crescimento bacteriano, portanto, a dimensão do halo é proporcional à eficácia do agente antimicrobiano. A Figura 19 mostra uma representação desse halo.



Figura 19 - Halo inibitório.

Fonte: <<http://www.e-escola.pt>>. Acesso em: 04 abr. 2011.

Após a leitura do halo, o material foi depositado na autoclave vertical do LIMA (figuras 20 e 21) a 21°C durante cerca de 30 minutos para o procedimento de desinfecção. Posteriormente o material foi devidamente descartado.



Figura 20 - Autoclave do LIMA.



Figura 21 - Material utilizado dentro da autoclave.

4.3.6 Resumo da metodologia adotada

Em seguida, na Figura 22, encontra-se um resumo esquemático da metodologia anteriormente explicada e adotada neste trabalho.

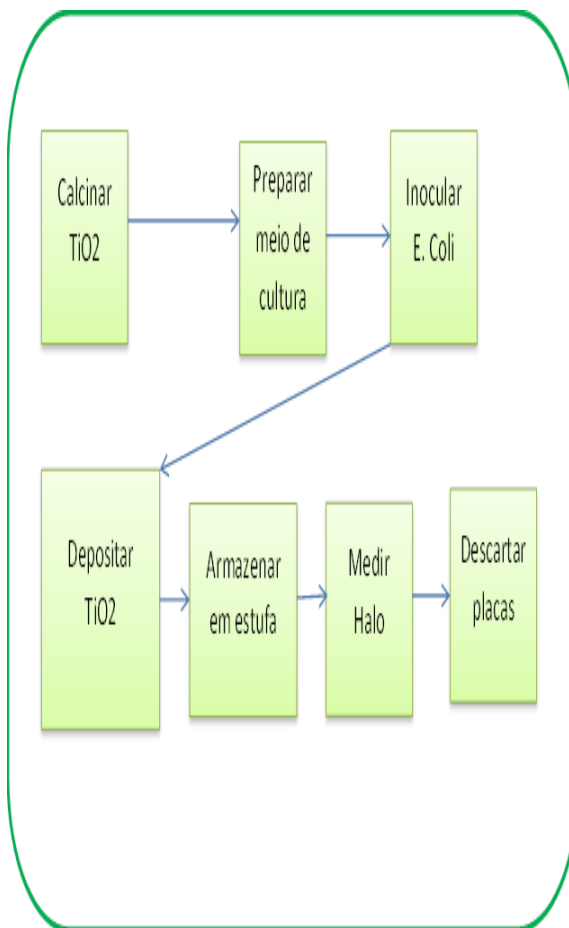


Figura 22 - Metodologia resumida e ilustrada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme elucidado nos itens 4.3.4 e 4.3.5, em cada placa de Petri foi feita a medição do halo inibitório, em mm, com o auxílio de um paquímetro. Os valores obtidos através dessas leituras, bem como a média, variância e desvio padrão, tanto para as placas armazenadas na estufa sob luz UVA, quanto para as placas armazenadas sem iluminação, encontram-se nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Medição do halo nas placas com TiO₂ sob luz UV.

Temperatura de calcinação °C	Halo inibitório em mm				
	Valores Obtidos		Média	Variância	Desvio Padrão
340	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00
400	2,50	2,00	2,25	0,13	0,35
500	3,00	2,50	2,75	0,13	0,35
600	3,10	3,00	3,05	0,01	0,07
700	3,30	3,50	3,40	0,02	0,14

Tabela 2 - Medição do halo nas placas com TiO₂ sem luz UV.

Temperatura de calcinação °C	Halo inibitório em mm				
	Valores Obtidos		Média	Variância	Desvio Padrão
340	0,19	0,21	0,20	0,00	0,01
400	0,80	0,90	0,85	0,01	0,07
500	1,10	1,00	1,05	0,01	0,07
600	2,50	2,00	2,25	0,13	0,35
700	2,00	3,00	2,50	0,50	0,71

Para facilitar a comparação e visualização foi criada a Tabela 3 contendo somente os valores médios dos tamanhos dos halos de inibição formados nas placas de Petri com aplicação de dióxido de titânio.

Tabela 3 - Comparação dos valores médios do halo nas placas contendo TiO_2 .

Temperatura °C	Halo inibitório em mm	
	Com UV	Sem UV
340	1,00	0,20
400	2,25	0,85
500	2,75	1,05
600	3,05	2,25
700	3,40	2,50

O pó de dióxido de titânio, sem ter sido calcinado na mufla do LIMA, também foi utilizado no experimento. Os resultados obtidos para essa situação encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 - Medição do halo nas placas com TiO_2 sem calcinação.

TiO₂ (sem calcinar)	Halo inibitório em mm				
	Valores obtidos		Média	Variância	Desvio Padrão
Com UV	0,70	0,80	0,75	0,01	0,0707
Sem UV	0,10	0,50	0,30	0,08	0,2828

O mesmo procedimento laboratorial foi feito com a amoxicilina, para posterior comparação com os resultados obtidos para o dióxido de titânio. A amoxicilina é um composto utilizado e conhecido mundialmente, pertencente ao grupo das penicilinas, com propriedades antimicrobianas, e eficaz ação contra bactérias gram-negativas e gram-positivas.

Os resultados da leitura do halo para esse composto encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 - Medição do halo nas placas contendo amoxicilina

Amoxicilina	Halo inibitório em mm				
	Valores obtidos		Média	Variância	Desvio Padrão
Com UV	16,50	18,00	17,25	1,13	1,06
Sem UV	14,00	14,00	14,00	0,00	0,00

Nas figuras 23 e 24 são apresentadas as fotos das placas analisadas com seus respectivos halos de inibição.

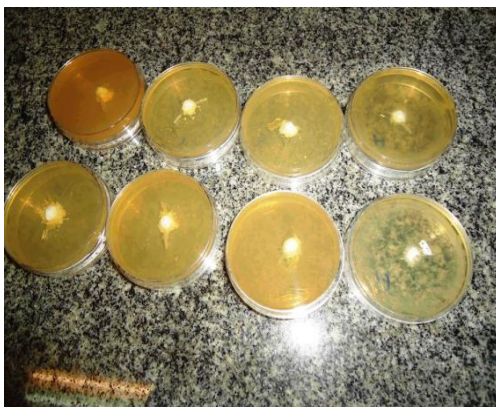


Figura 23 - Placas sem iluminação UV.

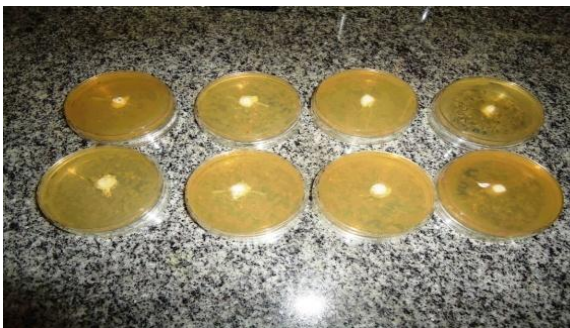


Figura 24 - Placas sob iluminação UV.

O Gráfico 1, abaixo, permite visualizar melhor os dados obtidos, auxiliando na análise dos resultados.

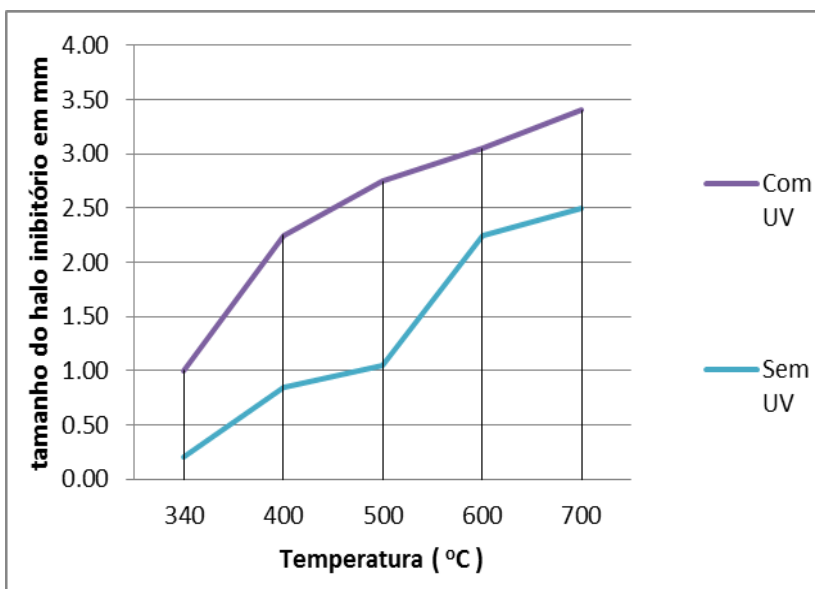


Gráfico 1 - Tamanho do halo nas placas contendo TiO_2 .

Esse gráfico mostra como varia o tamanho do halo de inibição em função da temperatura de calcinação, nas placas contendo dióxido de titânio, tanto na presença de luz UV, quanto na ausência de iluminação. Na presença de luz ultravioleta o tamanho do halo inibitório foi superior em todas as temperaturas de calcinação analisadas.

O TiO_2 age primeiro absorvendo a bactéria *Escherichia coli* e depois na presença de luz UV ocorre a fotocatalise heterogênea, propriamente dita.

O pó de dióxido de titânio consegue danificar a parede celular e a membrana plasmática da *E. coli*, aumentando sua permeabilidade e permitindo com isso a perda de conteúdo intracelular. Já a luz UVA atua danificando os ácidos nucleicos de alguns microorganismos como *E. coli* (CARMO,2009).

A Tabela 6 e os gráficos 2 e 3 mostram os maiores valores médios de halo inibitório, obtidos neste trabalho, para os compostos amoxicilina e dióxido de titânio.

Tabela 6 - Maiores valores de halo inibitório (em mm) para a amoxicilina e para o TiO_2 .

Composto	Com UV	Sem UV
Amoxicilina	17,25	14,00
TiO_2 calcinado (700 °C)	3,40	2,50
TiO_2 sem calcinar	0,75	0,30

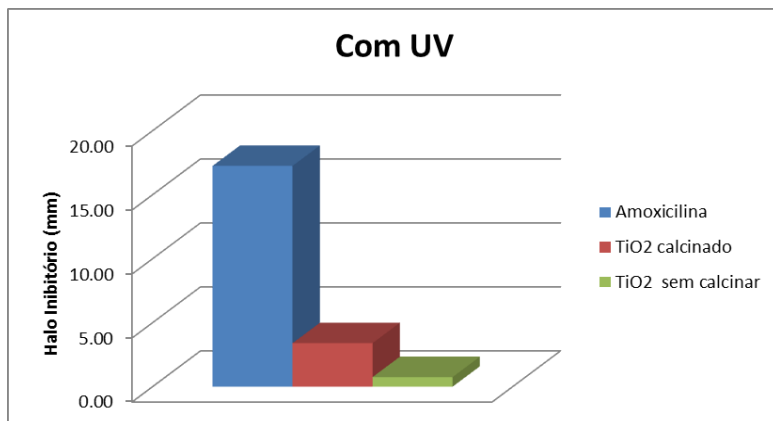


Gráfico 2 - Tamanho do halo nas placas sob iluminação UV.

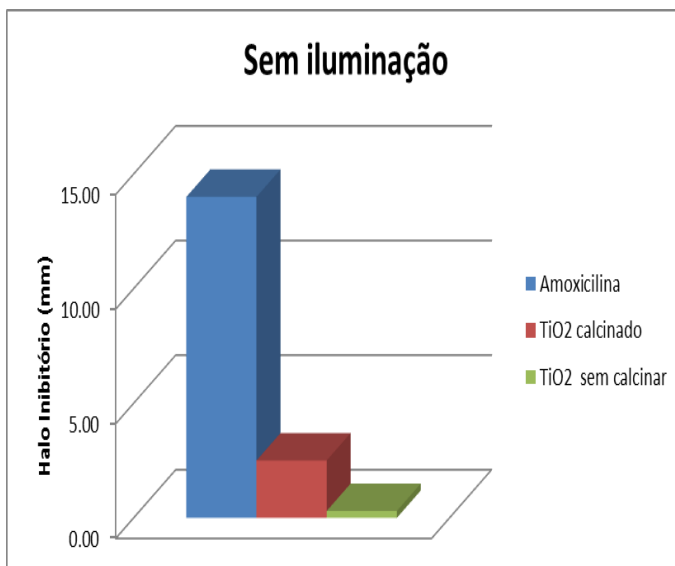


Gráfico 3 - Tamanho do halo nas placas com ausência de iluminação.

Foi observado neste estudo que todas as cepas testadas de *Escherichia coli* foram sensíveis ao pó de dióxido de titânio puro, onde o maior halo de inibição de crescimento bacteriano foi de 3,50 mm, sob a ação de TiO₂ previamente calcinado a 700°C sob luz UVA, e o menor halo de 0,19 mm, na temperatura de calcinação de 340 °C sem iluminação.

De acordo com os valores apresentados nas tabelas 2, 3 e 4, é possível novamente observar que os tamanhos dos halos inibitórios formados nas placas de Petri durante o presente estudo foram maiores para os fotocatalizadores em que a temperatura de calcinação do dióxido de titânio também foi maior. Esses dados corroboram os dados obtidos por Santos (2010) e também por Machida et al. (2005).

Em sua tese de doutorado, Santos (2010), também realizou experimentos de fotocatalise heterogênea com bactérias utilizando como catalisador o dióxido de titânio. Em sua pesquisa, Santos analisou a inativação de dois tipos de bactérias, a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Escherichia coli*, sob a ação de TiO₂ puro calcinado (aquecido) a 250, 450 e 900°C. Para ambas as bactérias o resultado foi o mesmo, ou seja,

para a temperatura de calcinação do fotocalizador de 900 °C houve maior inativação bacteriana.

Ainda de acordo com Santos (2010) não há influência clara da temperatura de calcinação do TiO_2 na atividade antimicrobiana, pois materiais, cujas estruturas encontram-se na forma rutilo, também apresentam uma boa atividade fotocatalítica. Além disso, tratamentos antimicrobianos em temperaturas superiores a 250°C, mas menores que 900°C, são requeridos para otimizar a fotocatalise com TiO_2 . Portanto, neste trabalho optou-se por utilizar temperaturas de calcinação variando de 340 a 700 °C.

Segundo Machida, Norimoto e Kimura (2005), a 900 °C o TiO_2 apresenta 100 % de eficácia como antibactericida. Logo, as temperaturas inferiores indicam um aumento gradativo da eficácia até atingir esta temperatura. A partir de 900 °C houve uma queda na atividade antibactericida. Neste trabalho também se verificou um aumento gradativo da eficácia na medida em que houve um aumento na temperatura de calcinação do TiO_2 . Além disso, como já eram esperados, os valores obtidos no presente trabalho para as amostras sob iluminação ultravioleta foram superiores aos valores das amostras dispostas sem exposição à luz ultravioleta.

O dióxido de titânio também apresentou ação antimicrobiana mesmo quando não foi realizado o procedimento de calcinação, porém os resultados neste caso foram consideravelmente inferiores aos obtidos com a calcinação.

Em todos os casos analisados neste trabalho, os valores foram muito inferiores aos obtidos com o antibiótico amoxicilina. Sob iluminação ultravioleta o tamanho do halo obtido com o uso da amoxicilina foi de 17,25 mm, enquanto que o maior valor obtido com o dióxido de titânio calcinado foi de 3,40 mm. Isso ocorre provavelmente devido a melhor ação deste agente sobre a *E. coli*; o que não inviabiliza, entretanto o uso futuro do TiO_2 no combate bacteriológico.

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Com este projeto esperava-se verificar o surgimento do halo de inibição nas placas de Petri o que comprovaria a inibição do crescimento bacteriano e a eficiência deste tipo de degradação fotocatalítica da bactéria *Escherichia coli*.

De fato houve a formação desse halo inibitório, o que permite confirmar assim que o TiO_2 possui propriedades bactericidas.

Com relação à influência da temperatura de calcinação do dióxido de titânio, analisando somente com base nos experimentos realizados, conclui-se que quanto maior a temperatura de calcinação adotada neste estudo, mais eficiente o TiO_2 será na degradação bacteriana da *Escherichia coli*. Foi observado que todas as cepas testadas foram sensíveis ao pó de dióxido de titânio puro, onde o maior halo de inibição de crescimento bacteriano foi de 3,50 mm, TiO_2 previamente calcinado (aquecido) a 700°C e o menor de 0,19 mm, na temperatura de calcinação de 340°C .

Com este estudo, conclui-se também que é melhor adotar o dióxido de titânio, depois de uma previa calcinação deste composto, já que este procedimento parece otimizar sua eficácia.

O composto amoxicilina como já era previsto apresentou excelentes resultados. Estes resultados foram bastante superiores aos obtidos com dióxido de titânio. Recomenda-se que sejam feitas novas pesquisas sobre como potencializar o efeito do TiO_2 , ou para descobrir em qual condição o seu uso se torna mais eficaz e comercialmente viável que os demais antimicrobianos.

O TiO_2 pode ser, portanto, uma alternativa na desinfecção de ambientes internos, no tratamento de gases causadores de odor e no tratamento de infecções causadas por bactérias, podendo futuramente vir a ser comercializado sob as formas de cremes, pomadas, sabonetes medicinais, pomadas, tinturas, entre outros.

Deste modo, este trabalho contribui, por exemplo, para o desenvolvimento de tecnologias de desinfecção de ambientes confinados e contaminados por organismos patogênicos, como os hospitais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Resolução nº9, Ministério da Saúde, 16 de janeiro de 2003.

CARMO, José Dilmar Obregon do. **Atividade fotocatalítica de nanotubos de titanatos frente a bactérias**. 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado) - UNIFRA, Santa Maria, 2009.

CAVALCANTI, Paulina Maria Porto Silva. **Avaliação dos impactos causados na qualidade do ar pela Geração Termelétrica**. 2003. Dissertação (Mestrado)-COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, 2003.

CHAVES, Roberta Viana Araújo. **Avaliação de dois clones de *Escherichia coli* recombinante quanto ao crescimento e expressão de antígenos de *Leishmania chagasi* (kmp 11 e P36)**. 2009. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Ufrn, Natal, 2009.

DIAS, Rafael de Oliveira. **Efeito clínico e microbiológico da administração de antibióticos na fase cirúrgica da terapia periodontal em indivíduos com periodontite crônica**. 2010. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Guarulhos, Guarulhos, 2010.

FRANCISCO, Adriana Ribeiro. **Pós-tratamento de esgoto por fotocatalise heterogênea solar antes e após filtração lenta**. 2009. 113 f. Dissertação (Mestrado) - UNICAMP, Campinas, 2009.

HUANG, Chin-Pao; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: it present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste management**, [S.l.], v.13, p.361-377, 1993.

INVERNIZZI, Noela. Visões do futuro: nanociência e nanotecnologia no Jornal da Ciência. In : ESOCITE JORNADAS LATINO-AMERICANAS DE ESTUDOS SOCIAIS DAS CIÊNCIAS E DAS TECNOLOGIAS, 7., 2008, Rio de Janeiro. **Anais eletrônicos...** Rio de Janeiro : [s. n.]Disponível em: <<http://www.necso.ufrj.br/esocite2008/>>. Acesso em: 14 nov. 2010.

KONDO, Márcia Matiko; ORLANDA, José Fábio F.; FERREIRA, Maria da Glória A. B. and GRASSI, Marco Tadeu. Proposição de um reator fotocatalítico para destruição de

microrganismos em ambientes interiores. **Química Nova**, [S. l.], v. 26, n. , p.133-135, 2003.

LABACVET. (Org.). *Escherichia coli*: microbiologia clínica. 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/ecoli.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2010.

MACEDO, Núbia Rezende; Meneses, Carla; Lage, Andrey Pereira; Ristow, Luiz Eduardo; Reis, Adrienny; Guedes, Roberto Maurício Carvalho. Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarreicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, Oct. 2007.

MACHIDA, Mitsuyoshi; NORIMOTO, Keiichiro; KIMURA, Tamon. Antibacterial activity of photocatalytic titanium dioxide thin films with photodeposited silver on the surface of sanitary ware. **Journal of American Ceramic Society**, Ohio, p. 95-100. Jan. 2005.

MARANHÃO, Flávio; LOH, Kai; JOHN, Vanderley Moacyr. O uso da fotocatalise em materiais autolimpantes. **Téchne**: Revista de Tecnologia da Construção, [S. l.], v. 141, n. , p.50-54, dez. 2008.

MILLS, Andrew; HUNTE, Stephen. An overview of semiconductor photocatalysis. **Journal Of Photochemistry And Photobiology A: Chemistry**, Lausanne, p. 01-35. 1997.

MONTAGNER, Cassiana, PASCHOALINO, Matheus Paes, JARDIM, Wilson Figueiredo. **Aplicação da fotocatalise heterogênea na desinfecção de água e ar**. Campinas, SP: UNICAMP, 2005. (Caderno Temático, 4)

NOGUEIRA, Raquel Fernandes Pupo; JARDIM, Wilson Figueiredo. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, [S.l.], n. 1, p.69-72, 1998.

OLIVEIRA, José Luiz Ferreira. **Poluição atmosférica e o transporte rodoviário**: perspectivas de uso do gás natural na frota de ônibus urbanos da cidade do rio de janeiro. 1997, Tese (Mestrado)-COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro , Rio de Janeiro, 1997.

PASCHOALINO, Matheus Paes. **Utilização da fotocatalise heterogênea na desinfecção de atmosferas confinadas**. 2006. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

PIRES, Dilson Ojeda. **Inventário de emissões atmosféricas de fontes estacionárias e sua contribuição para a poluição do ar na região metropolitana do Rio de Janeiro**. 2005. 194 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

PORTO, Cecília Helena Soares. **Fotocatalise heterogênea em instrumental odontológico recoberto de nanopartículas TiO_2 e Ag**. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

PRUDEN, Ann Lorette; OLLIS, David . Photoassisted heterogeneous catalysis: the degradation of trichloroethylene in water. **Journal of Catalysis**, Princeton, p. 404-417, ago. 1983. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/journal/00219517>>. Acesso em: 10 jan. 2011.

QUINA, Frank Herbert. Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 06, p.1028-1029, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000600031&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 19 nov. 2010.

SANTOS, Jomilson Moraes Dos. **Desenvolvimento biocidas inorgânicos a base de óxidos de titânio e silício com prata para desinfecção de contaminadas com microrganismo**. 2010. 141 f. Tese (Doutorado) - Unesp, Botucatu, 2010.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO SES/SP. **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água: Escherichia coli O157: H7 - enterohemorrágica (EHEC)**, 2008. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Ecolinet.htm>>. Acesso em: 20 nov. 2010.

TEIXEIRA , Cláudia Poli de Almeida Barêa; JARDIM, Wilson Figueiredo . **Processos oxidativos avançados:** conceitos teóricos. Campinas: UNICAMP, 2004. (Caderno Tematico, 3).

VITUSSI, Thales Rodrigo Colombo. **Utilização do metronidazol associado à amoxicilina no tratamento das periimplantites.** 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Guarulhos, Guarulhos, 2006.

ZHAO, Jian; YANG, Xing. Photocatalytic oxidation for indoor air purification: a literature review. **Building and Environment**, USA, v. 38, p. 645-654, 2003.

ZIOLLI, Roberta Lourenço; JARDIM, Wilson Figueiredo. Mecanismo de fotodegradação de compostos orgânicos catalisada por TiO_2 . **Química Nova**, [S.I.], n. 3, p.319-325, 1998.